Aus den seminaristischen Übungen für pathologische Physiologie
an der Universität Berlin
Leiter: Prof. Dr. Adolf Bickel

Über den Einfluß des teilweisen N-æquimolecularen Ersatzes des Kartoffeleiweißes durch Casein-Hydrolysat auf den Betriebsstoffwechsel

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
an der
Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

Vorgelegt von
BENNO KUHN
aus Adl. Oueetz, Ostpr.

Tag der Promotion: 10. April 1937

Buchdruckerei Franz Linke, Berlin NW7, Marienstr. 13

M 15

Gedruckt mit Genehmigung
der
Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. R. Siebeck
Referent: Prof. Dr. A. Bickel
Korreferent: Prof. Dr. G. v. Bergmann

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Wie A. Bickel[1]) in seiner Schrift „Naturgemäße Ernährung und Eiweißstoffwechsel" an Hand des in der Literatur vorliegenden Materials nachweist, ist es bisher nicht gelungen, weder durch ein in vitro gewonnenes Abbauprodukt des nativen Eiweißes, noch durch Verdauung oder Salzsäure-Hydrolyse des nativen Eiweißes, noch durch ein synthetisch hergestelltes Gemisch aller bekannten Aminosäuren, denselben Effekt beim Wachstum junger Ratten und Mäuse zu erzielen, wie durch die Verfütterung des nativen Eiweißes selbst. Besonders gilt das auch für die Derivate des Caseins und das Casein selbst. Diese Wachstumsversuche wurden vor allem von amerikanischen Physiologen in den letzten Jahren durchgeführt. Von einem ähnlichen Gesichtspunkt aus hatte schon früher Abderhalden[2]) geprüft, ob in vitro hergestellte Gemische der Eiweißabbauprodukte in Bezug auf die Behauptung der N-Bilanz als Nahrungsstickstoffträger dasselbe leisteten, wie das native Eiweiß selber. Bei diesen Arbeiten kam Abderhalden zu der Einsicht, daß die Befähigung eines derartigen Gemisches von Eiweißderivaten, bei bestimmter Dosierung N-Gleichgewicht zu unterhalten, mit abhänge von der Art der Darstellung des Gemisches. Aus den diesbezüglichen Arbeiten von Abderhalden mag hier an Folgendes erinnert werden.

Bei der gewöhnlichen Art des Eiweißabbaues mit Säuren zeigte sich, daß nicht alle Bausteine unverändert blieben. Vor allem wurde das Tryptophan angegriffen. Wenn die Hydrolyse mit Säuren unter besonderer Vorsichtsmaßregeln — nicht zu hohe Temperatur und verdünnte Säuren! — vorgenommen wurde, gelangte Abderhalden zu Präparaten, die das Nahrungseiweiß weitgehend ersetzen konnten. Bei den Abderhalden'schen Versuchen sind nur vollständig abgebaute Produkte verwendet worden. Genaueres über die Herstellungsmethodik findet sich in der Arbeit von Abderhalden in der „Zeitschrift für physiologische Chemie" Band 86. In der Tat zeigte sich, daß bei den mit besonderen Kautelen hergestellten Gemischen von Aminosäuren zweifellos eine gewisse Vollwertigkeit vorhanden war, in dem Stickstoffgleichgewicht oder eine positive Stickstoffbilanz erhalten werden konnte. Bei Wegnahme eines bestimmten Bausteines aus einem derartigen Gemisch stellte sich sofort eine negative Bilanz ein. Die Ver-

suche ergaben, daß das Fehlen des Glycocolls keinen Einfluß auf das Stickstoffgewicht eines solchen Gemisches ausübte. Wurde aber das l-Tryptophan aus dem Aminosäurengemisch entfernt, so konnte das Stickstoffgleichgewicht nicht mehr aufrecht erhalten werden; gleichfalls nicht beim Fehlen des Histidins. Das Cystin ist sehr wahrscheinlich ebenfalls eine unentbehrliche Aminosäure. Doch verfügte A b d e r h a l d e n nicht über ganz eindeutige Resultate bei seinen Versuchen. Bei der d-Glutaminsäure waren die Versuchsergebnisse auch nicht einwandfrei, da bei der Entfernung der Glutaminsäure aus dem Hydrolysatgemisch das Tryptophan fast vollständig verloren geht.

Ueber die Frage, in welcher Form Nahrungseiweiß resorbiert wird, konnten L o n d o n und K o t s c h n e f f[3]) an angiostomierten Hunden folgendes feststellen: **Bei der Eiweißverdauung werden neben den Aminosäuren auch größere Mengen höherer Eiweißderivate resorbiert.**

Im Wesentlichen beziehen sich alle genannten Versuche auf die Frage, wie weit i n v i t r o aufgespaltenes Eiweiß, und insbesondere bis zu den Aminosäuren abgebautes Eiweiß, beim Wachstum und beim Ausgleich der Abnützungsquote als Ersatz für das native Eiweiß gelten könne. Es beziehen sich diese Beobachtungen also im Wesentlichen auf den B a u s t o f f w e c h s e l, wie er in der Körpergewichtszunahme oder in der Behauptung einer gewissen Positivität der N-Bilanz zum Ausdruck kommt.

Die andere Seite des Stoffwechsels, nämlich der Betriebsstoffwechsel wird durch diese bisher besprochenen Untersuchungen kaum berührt. Hierbei war uns bekannt, daß die spezifisch-dynamische Wirkung, die am Verhalten des Grundumsatzes zur Anschauung kommt, durch die orale Gabe eines nativen Eiweißes oder seines in vitro hergestellten Bausteingemisches, wie auch durch synthetisch hergestellte Aminosäuregemenge und endlich auch durch einzelne Aminosäuren in gleicher Weise hervorgerufen werden kann. Eine feinere, wertmäßige Differenzierung der Wirkung eines nativen Eiweißes von derjenigen seiner in vitro gewonnenen Abbauprodukte im Betriebsstoffwechsel war aber damit nicht erzielt worden.

Daß in der spezifisch-dynamischen Wirkung Betriebsstoffwechselvorgänge vor allen Dingen zum Ausdruck kommen, bedarf im Hinblick auf ihre Beziehungen zur Wärmebildung und ihrer unmittelbaren Abhängigkeit von der Nahrungszufuhr keiner besonderen Begründung.

A. Bickel[4]) hatte nun mit Hilfe der Bestimmung der Harnqquotienten C : N und Vacat-O : N unter Einhaltung einer bestimmten physiologischen Versuchsmethodik[5]) gezeigt, daß man bei Gruppen von erwachsenen Versuchstieren in der Harnquotientenlage ein bestimmtes Querschnittsbild des gesamten Stoffwechsels erhält. In wesentlicher Weise wird dieses Querschnittsbild unter anderem auch durch Vorgänge im Betriebsstoffwechsel bestimmt, die in Abhängigkeit von der Qualität des Nahrungsmittels stehen. Damit war auch zugleich die Möglichkeit gegeben, die Wirkung eines nativen Eiweißes auf den Betriebsstoffwechsel mit seinem in vitro hergestellten Derivatgemisch zu vergleichen. Eine Untersuchung in dieser Richtung führte im hiesigen Laboratorium Paul Lieke[6]) aus. Er fand unter Einhaltung der erwähnten Versuchsmethode, daß die Lage der Harnquotienten unverändert bleibt, wenn man in einer Nahrung, deren Nahrungseiweiß das Casein ist, dieses durch sein in vitro hergestelltes Salzsäurehydrolysat in N-aequimolecularer Menge ersetzt.

Man hätte danach annehmen können, die Wirkung des Caseins und seines in vitro hergestellten Derivates sei im Betriebsstoffwechsel identisch. Bei diesen Versuchen war der gesamte Nahrungsstickstoff entweder im nativen Casein oder in seinem Säurehydrolysat enthalten. Es gab nun noch eine andere Möglichkeit, zu prüfen, ob eine volle Identität der Wirkung zwischen der des Caseins und der seines Hydrolysates bestand. Braasch[7]) hatte im hiesigen Laboratorium nachgewiesen — eine Untersuchung, die auch schon A. Bickel[8]) in seiner Arbeit „Experimentelle Untersuchungen über das Zusammenwirken von tierischem und pflanzlichem Nahrungseiweiß im Betriebsstoffwechsel und die dadurch bedingte Beeinflussung des gesamten Stoffwechsels" erwähnt hat — daß schrittweiser Ersatz des Kartoffeleiweißes, wenn es in der gemischten Nahrung das gesamte Nahrungseiweiß darstellt, durch Casein in N-aequimolecularer Menge zu einer Senkung der Harnquotienten von ihrem für das Kartoffeleiweiß charakteristisch hohen Stand führt. Diese Senkung bewirkt bei einer Mischung von $^2/_3$ Casein und $^1/_3$ Kartoffeleiweiß eine Harnquotientenlage, die wenigstens für C : N tiefer liegt, als die für das Casein als alleiniges Nahrungseiweiß an sich schon tiefe Harnquotientenlage. Es war nun der Gedanke naheliegend, derartige Mischungsversuche mit Kartoffeleiweiß und Caseinhydrolysat vorzunehmen. Bei den Versuchen von Braasch[7]) trat mit der Vermehrung des

Caseins in der Nahrung schrittweise die Senkung der Quotienten auf. Unter Verwendung des gleichen Caseinhydrolysates, mit dem auch L i e k e[6]) seine Versuche gemacht hatte und dessen Darstellung in der L i e k e ' schen Arbeit beschrieben ist, ersetzte ich nun $^2/_3$ des Kartoffeleiweißes in der Nahrung durch die N-aequimoleculare Menge des Caseinhydrolysates. Als ich diese Mischung in gleichmäßiger Weise 4 Wochen lang verfütterte, trat zunächst eine initiale Steigerung der Harnquotienten auf, die dann zu einer allmählichen Senkung derselben führte. Diese Senkung entwickelte sich aber s e h r z ö g e r n d und hatte nach erst 4 Wochen knapp den Wert erreicht, der nach L i e k e[6]) vorhanden ist, wenn Casein oder Caseinhydrolysat in entsprechenden Mengen das gesamte Nahrungseiweiß darstellen. **Die initiale Steigerung der Harnquotienten in Verbindung mit ihrem zögernden Abfall deuten darauf hin, daß die Vorgänge im Betriebsstoffwechsel bei Verfütterung des in vitro hergestellten Hydrolysates nicht ganz identisch sind mit denjenigen, die bei einer Verfütterung von einer N-aequimolecularen Menge von Casein auftreten. Diese Differenz ist nicht zum Ausdruck gekommen, wenn Casein oder sein Hydrolysat den gesamten Nahrungsstickstoff darstellen. Die Differenz hat sich erst gezeigt bei dem Zusammenspiel des Caseinhydrolysates mit einem anderen Nahrungseiweiß, also erst bei einer gesteigerten Leistungsprüfung.**

Experimenteller Teil.

Die Versuche wurden an einer Gruppe von 10 männlichen, weißen Ratten ausgeführt, die ein Gewicht von 160—180 g hatten. Derartige Versuche müssen nämlich immer an einer größeren Gruppe von Tieren angestellt werden, um jeden individuellen Faktor auszuschalten. Nur dann sind die Versuchsergebnisse erfahrungsgemäß klar und eindeutig. Die 10 Ratten wurden in einem gemeinsamen Stoffwechselkäfig gehalten, der es gestattete, Harn und Kot getrennt aufzufangen. Der Kot wurde periodenweise gesammelt, getrocknet, und auf seinen Gehalt an Stickstoff analysiert. Jede Versuchsperiode dauerte 7 Tage, an den zwei ersten Tagen jeder Periode wurde das jeweilige zuständige Futter gegeben, ohne daß der Harn analysiert wurde. An den folgenden 5 Tagen wurde dann der Harn analysiert. Dadurch wurde erreicht, daß bei Wechsel der Versuchsperiode von einer Periode zur anderen die Tiere zwei Tage Zeit hatten, um sich auf die neuen Bedingungen einzu-

stellen, so daß zu Beginn der Analysen eine Gewähr für die volle Auswirkung der neuen Bedingungen auf den Stoffwechsel gegeben war.

Immer fraßen die Tiere die genau zugemessene tägliche Nahrungsmenge quantitativ auf. Die Nahrungsmenge, welche 10 Tiere pro Tag in den entsprechenden Versuchswochen erhielten, ist in folgender Tabelle zusammengestellt.

Futter-Tabelle.

Nach meiner Analyse enthielten:

1 g Casein =	0,1214	g N
1 g Kartoffelflocken =	0,01319	g N
1 ccm Caseinhydrolysat =	0,0152	g N

Periode 1.

1/3 Kartoffelflocken =	30,68	g
Lebertran =	20,00	ccm
Salzgemisch =	1,00	g + 5 g Kochsalz
Apfelsinensaft =	10,00	ccm
Wasser =	600,00	ccm

ca. 54,8 Kalorien pro Ratte!

Periode 2.

2/3 Caseinhydrolysat =	53,25	ccm
Lebertran =	20,00	ccm
Zucker =	23,00	g
Stärke =	31,00	g
Salzgemisch =	1,00	g + 12,5 ccm 33%ige NaOH.
Apfelsinensaft =	10,00	ccm
Wasser =	600,00	ccm

ca. 54,6 Kalorien pro Ratte!

Periode 3 = Futter der 2. Periode. Nur der Apfelsinensaft wurde durch Zitronensaft ersetzt.

Periode 4 = Futter der 3. Periode.

Zwischen der 3. und 4. Periode liegt eine Fütterungswoche ohne Analysen.

Analytische Methodik.

Der 24stündige Sammelharn wurde auf seinen Gehalt an Stickstoff, Kohlenstoff, Vacat-Sauerstoff und Chlor untersucht.

Im Trockenkot jeder Versuchsperiode wurde der Gehalt an Stickstoff bestimmt.

Der Stickstoff wurde mit der Halbmikromethode von Kjeldahl ermittelt.

Zur Kohlenstoffbestimmung wurde die von Osuka[9]) verbesserte Methode von Nicloux, zur Vacat-O-Bestimmung die Mikromethode von Müller-Kanitz[10]) angewendet.

Zur Chlorbestimmung wurde die Methode von Mohr verwandt.

In der nun folgenden Tabelle wurden aufgeführt:

1. Das Durchschnittsgewicht der Ratten, d. h. Gesamtgewicht dividiert durch die Anzahl der Tiere.
2. Die 24stündige Harnmenge.
3. Die Menge C, Vacat-O und N-Gehalt der 24stündigen Harnmenge.
4. Die Quotienten C/N, O/N und O/C.
5. Aus den Analysenzahlen und -Tagen errechnete Durchschnittswerte.
6. Dauer der Fütterung 7 Tage. Analysen vom 3.—7. Tag. Die Analysentage wurden aber der besseren Uebersicht wegen laufend nummeriert.

Analysen-Tabelle 10 Ratten.

Versuchstag No.	Körpergewicht in g	Harnmenge ccm	Harn-C mg	Harn-Va-cat-O mg	Harn-N mg	C/N	O/N	O/C
			Periode 1. Kartoffelflocken					
1	168	330	1171,5	1587,3	716,1	1,635	2,216	1,354
2	168	460	887,8	910,8	547,5	1,621	1,663	1,026
3	169	455	859,9	1123,8	573,3	1,499	1,960	1,303
4	169	330	881,1	792,0	541,2	1,628	1,463	1,898
5	170	450	864,0	1035,0	522,0	1,655	1,982	1,197
Periodendurchschnittswert:			932,8	1089,8	580,0	1,608	1,878	1,168
			Periode 2. $^1/_3$ Kartoffelflocken u. $^2/_3$ Caseinhydrolysat					
6	170	320	1052,8	1308,8	758,4	1,388	1,725	1,243
7	170	320	921,6	1478,4	544,0	1,694	2,717	1,604
8	169	730	2321,4	4883,5	1204,5	1,927	4,054	2,103
9	169							
10	168	361	1259,8	1978,3	772,5	1,630	2,560	1,571
Periodendurchschnittswert:			1388,9	2412,2	819,8	1,694	2,942	1,736
			Periode 3. $^1/_3$ Kartoffelflocken u. $^2/_3$ Caseinhydrolysat					
11	169	460	874,0	1035,0	519,8	1,681	1,991	1,184
12	170	455	864,5	1446,9	668,8	1,292	2,178	1,673
13	170	390	592,8	982,8	456,3	1,299	2,153	1,658
14	171	312	570,9	889,2	458,6	1,244	1,938	1,557
15	171	380	809,4	1257,8	627,0	1,290	2,006	1,553
Periodendurchschnittswert:			742,3	1122,3	546,1	1,359	2,055	1,511
			Periode 4. $^1/_3$ Kartoffelflocken u. $^2/_3$ Caseinhydrolysat					
16	172	455	728,0	1205,7	632,4	1,151	1,906	1,656
17	171	449	740,8	862,0	642,0	1,153	1,342	1,163
18	172	459	720,6	816,3	582,9	1,236	1,400	1,132
19	172	450	720,0	742,5	652.5	1,114	1,137	1,018
20	171	380	706,8	756,2	734,6	1,113	1,191	1,069
Periodendurchschnittswert:			725,0	876,5	628,9	1,152	1,393	1,209

Zwischen der 3. u. 4. Periode liegt eine Woche ohne Analysen

N-Bilanz-Tabelle. 10 Ratten

Periode 1. Kartoffelflocken

92,04 g Kartoffelfl. = 1,2140 g N

10 Tiere an 5 Tagen	Nahrungs	- N: +	6,0700 g N
10 „ „ 5 „	Kot	- N: —	2,0620 g N
10 „ „ 5 „	Resorb.	- N: +	4,0080 g N
10 „ „ 5 „	Harn	- N: —	2,9000 g N
10 „ „ 5 „	Reteniert	- N: +	1,1080 g N
10 „ „ 1 Tag	„	- N: +	0,2216 g N
1 Tier „ 1 „	„	- N: +	0,02216 g N

C/N = 1,608

O/N = 1,878

Trockenkotmenge = 42,0055 g

Periode 2. 1/3 Kartoffelflocken u. 2/3 Caseinhydrolysat

30,68 g Kartoffelfl. = 0,4047 g N
53,24 ccm Hydrolysat = 0,8092 g N
31,00 g Stärke = 0,0248 g N

10 Tiere an 5 Tagen	Nahrungs	- N: +	6,1940 g N
10 „ „ 5 „	Kot	- N: —	1,0889 g N
10 „ „ 5 „	Resorbiert	- N: +	5,1051 g N
10 „ „ 5 „	Harn	- N: —	3,2794 g N
10 „ „ 5 „	Reteniert	- N: +	1,8257 g N
10 „ „ 1 Tag	„	- N: +	0,3651 g N
1 Tier „ 1 „	„	- N: +	0,03651 g N

C/N = 1,694

O/N = 2,942

Trockenkotmenge = 23,1870 g

Periode 3. 1/3 Kartoffelflocken u. 2/3 Caseinhydrolysat

10 Tiere an 5 Tagen	Nahrungs	- N: +	6,1940 g N
10 „ „ 5 „	Kot	- N: —	1,0084 g N
10 „ „ 5 „	Resorbiert	- N: +	5,1856 g N
10 „ „ 5 „	Harn	- N: —	2,7305 g N
10 „ „ 5 „	Reteniert	- N: +	2,4551 g N
10 „ „ 1 Tag	„	- N: +	0,4910 g N
1 Tier „ 1 „	„	- N: +	0,04910 g N

C/N = 1,359

O/N = 2,055

Trockenkotmenge = 22,0890 g

Periode 4. 1/3 Kartoffelflocken u. 2/3 Caseinhydrolysat

10 Tiere an 5 Tagen	Nahrungs	- N: +	6,1940 g N
10 „ „ 5 „	Kot	- N: —	0,7412 g N
10 „ „ 5 „	Resorbiert	- N: +	5,4528 g N
10 „ „ 5 „	Harn	- N: —	3,1444 g N
10 „ „ 5 „	Reteniert.	- N: +	2,3084 g N
10 „ „ 1 Tag	„	- N: +	0,4617 g N
1 Tier „ 1 „	„	- N: +	0,04617 g N

C/N = 0,152

O/N = 1,393

Trockenkotmenge = 14,7980 g

Zwischen der 3. u. 4. Periode liegt eine Woche ohne Analysen

Literatur

1. A. Bickel, „Naturgemäße Ernährung und Eiweißstoffwechsel". Leipzig, G. Thieme. 1935.
2. Abderhalden, Zeitschr. f. physiolog. Chem. Band 96, ferner Zeitschrift f. phys. Chem. Band 64, pg. 158, 1910.
3. London u. Kotschneff, Zeitschr. f. phys. Chem. Band 228, pg. 235, 1934.
4. A. Bickel, Archiv f. Kinderheilkunde, 107, 1. 1935.
5. A. Bickel, Biochem. Zeitschr. 284, 297, 1936.
6. P. Lieke, Zeitschr. f. d. ges. exp. Medizin, 99, 119, 1936.
7. G. Braasch, erscheint im Archiv f. Verdauungskrankheiten.
8. A. Bickel, „Experimentelle Untersuchungen über das Zusammenwirken von tierischem u. pflanzlichem Nahrungseiweiß im Betriebsstoffwechsel und die dadurch bedingte Beeinflussung des gesamten Stoffwechsels, Biochem. Zeitschr. 284, 297, 1936.
9. T. Osuka, Biochem. Zeitschr. 246, 104, 1932.
10. H. R. Kanitz, Biochem. Zeitschr. 249, 234, 1932. — Biochem. Zeitschr. 257, 361, 1933.

Lebenslauf.

Ich, Benno Kuhn, wurde am 19. April 1910 als Sohn des Rittergutsbesitzers Carl Kuhn und seiner Ehefrau Mathilde geb. Bludau in Adl.-Queetz, Ostpr., geboren. Nach 4 Jahren Grundschule kam ich auf das humanistische Gymnasium in Braunsberg und legte dort im März 1930 die Reifeprüfung ab. Im Sommerhalbjahr 1930 begann ich an der Universität in Freiburg i. Br. das Studium der Medizin. Das ärztliche Vorexamen bestand ich im Juli 1932 an der Königsberger Universität. Danach studierte ich an den Universitäten in Insbruck, München und Berlin. Am 15. November 1935 beendete ich an der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin mein Studium mit dem Staatsexamen. In der Folgezeit war ich als Medizinal-Praktikant an der Chirurgischen Abteilung des Auguste-Viktoria-Krankenhauses (Direktor: Prof. Dr. Stahl), an der I. Med. Klinik der Charité (Direktor: Prof. Dr. Siebeck), an dem Werner-Siemens-Röntgenforschungs-Institut des Robert - Koch-Krankenhauses (Direktor: Prof. Dr. Frik) und an der Kinderklinik der Charité (Direktor: Prof. Dr. Bessau) tätig.

Am 1. April 1933 trat ich als Fahnenjunker im Sanitätskorps in das Heer ein und wurde als Fähnrich am 1. November 1934 zur Militärärztlichen Akademie in Berlin kommandiert. Am 1. Oktober 1935 wurde ich zur Luftwaffe versetzt.

Die vorliegende Dissertation fertigte ich in den „seminaristischen Uebungen für pathologische Physiologie an der Universität Berlin" unter Leitung von Herrn Professor Dr. Adolf Bickel an. Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. Bickel für die Ueberlassung des Themas, für die Anregungen und die Durchsicht der Arbeit meinen ergebensten Dank auszusprechen.